

# 副溶血性弧菌 ATCC33847 在五种食品中代谢产物的溶血活性及对小鼠脏器的毒性差异

王润东, 孙力军, 王雅玲, 邓义佳, 郭沐晗, 邓旗, 刘颖, 徐德峰

(广东海洋大学食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东湛江 524088)

**摘要:** 研究副溶血性弧菌在食品中代谢产物的溶血活性及对小鼠脏器的损伤。将 ATCC33847 菌株接种于虾肉、牡蛎、淡水鱼肉、牛肉和蛋炒饭中培养, 除菌过滤, 以平板溶血法测定溶血活性, 以不同剂量的上述滤液灌胃小鼠, 测定脏器系数和生化指标。结果显示, 染菌蛋炒饭滤液具有最高的溶血活性, 但对小鼠脏器的损伤并不强于其它滤液; 染菌虾肉和牡蛎肉滤液引起小鼠胃肠系数升高的能力显著高于 ( $p < 0.05$ ) 其他滤液。染菌的五种食品滤液引起 ALB、ALP、AST、ALT 和 BUN 指标不同程度的改变 ( $p < 0.05$ ), 其中, 虾肉滤液对小鼠肝功能指标的影响强于其他滤液, 具有更强的肝脏毒性, 而牡蛎和鱼肉滤液表现出更强的肾脏毒性。揭示副溶血性弧菌可能在不同食品基质中会产生不同的毒力因子, 对小鼠脏器造成不同的毒效应损伤。

**关键词:** 副溶血性弧菌; 食品基质; 代谢产物; 溶血活性; 脏器系数; 肝肾功能指标

文章篇号: 1673-9078(2016)8-48-53

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.8.008

## Hemolytic Activity of the Metabolites Produced by *Vibrio parahaemolyticus* ATCC33847 in Five Food Matrices and Their Toxicity toward Mice Organs

WANG Run-dong, SUN Li-jun, WANG Ya-ling, DENG Yi-jia, GUO Mu-han, DENG Qi, LIU Ying, XU De-feng  
(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** The hemolytic activity of the metabolites produced by *V. parahaemolyticus* (*Vp*) in different food matrices and their toxicity on mice organs were analyzed. Shrimp, oyster, freshwater fish, beef, and egg-fried rice were inoculated with the ATCC33847 strain and incubated. After centrifugation and filtration, a plate hemolysis assay was used to detect the hemolytic activity of metabolites produced by *Vp* in food matrix filtrates, and mice were fed with different doses of the filtrates of the above food matrices by gavage. Mice were sacrificed, and organ coefficients (OC) and serum biochemical parameters were measured. The filtrate from egg-fried rice had the highest hemolytic activity, but did not produce greater toxicity to mice than other filtrates. In mice fed with the *Vp*-contaminated shrimp and oyster filtrates, the stomach and intestinal OC were significantly increased ( $p < 0.05$ ) compared with other food matrix filtrates. The metabolites produced by *Vp* in five food matrices caused various degrees of changes in albumin (ALB), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and blood urea nitrogen (BUN) ( $p < 0.05$ ) in mice. The shrimp filtrate showed a stronger effect on the indicators of mouse liver function than other filtrates and had a stronger liver toxicity, while oyster and freshwater fish filtrates showed a greater toxicity to kidney. These results suggest that *Vp* may produce different virulence factors in different food matrices, therefore causing different toxic damage to the organs in mice.

**Key words:** *Vibrio parahaemolyticus*; food matrix; metabolites; hemolytic activity; organ coefficient; indicators of liver and kidney function

收稿日期: 2015-11-12

基金项目: 国家自然科学基金 (31371746; 31371777); 广东省科技厅公益研究与能力建设专项资金项目 (2014B020204005; 2014B020205006); 广东省高等学校创新强校工程计划 (GD0U2013050312; GD0U2013050205; GD0U20014050203); 广东省渔业局项目 (粤财农[2015]115号)

作者简介: 王润东 (1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品质量与安全

通讯作者: 孙力军 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品质量与安全; 王雅玲 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品质量与安全

副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, 简称 *Vp*) 是一种革兰氏阴性嗜盐短杆菌, 广泛分布于海洋环境中, 尤其是沿海地区的海水、海底沉积物和鱼虾贝类等海产品<sup>[1]</sup>。人们常因误食被致病性 *Vp* 污染的或未烧熟煮透的食物导致腹痛、腹泻、呕吐等急性肠胃炎病症。中国、日本和美国等沿海国家均把 *Vp* 列为细菌性食源性疾病的重要致病菌<sup>[2]</sup>。近年来, 由于海洋环境的恶化和食品的交叉污染, *Vp* 的检出率及多样性呈上升趋势<sup>[3,4]</sup>, 由它引起的食源性疾病的发病率不断升高, 受到污染的食品种类也逐渐增多, 而且已从海产品扩大至淡水鱼、畜禽肉类、鸡蛋及其制品等非海洋食品<sup>[5,6]</sup>。然而, 关于致病性 *Vp* 在不同食品基质中的生长、产毒及其致病力的研究还很匮乏, 需要进一步加强。

研究发现 *Vp* 致病力的强弱与其代谢产物有关, 其中溶血毒素发挥关键作用<sup>[7]</sup>, 因此针对致病性 *Vp* 的代谢产物对机体损伤和致病机理的研究受到人们的重视。肝脏和肾脏作为外源物质进入机体后的重要代谢器官, 极易受到外来有害物质的损害, 但致病性 *Vp* 有毒代谢产物对肝脏和肾脏会造成什么样的损害, 目前还未见到相关报道。作者的研究团队在前期的研究中发现致病性 *Vp* 在不同的食品基质中产生的代谢产物对小鼠会产生不同的致死毒性, 说明致病性 *Vp* 在不同的食品基质中产生的代谢产物具有不同的毒性。然而, 致病性 *Vp* 在不同食品基质中的代谢产物的溶血活性和对动物脏器损伤尤其是肝肾功能的损伤作用的差异目前仍不清楚。

本研究通过检测 *Vp*(ATCC33847) 侵染培养的虾肉、牡蛎肉、鱼肉、牛肉和蛋炒饭滤液的溶血活性, 并将不同剂量的上述滤液灌胃小鼠测定小鼠脏器系数及肝功能酶活性生化指标的变化, 探讨致病性 *Vp* 在不同食品基质中的溶血活性差异以及代谢产物对小鼠脏器的部分毒效应, 以期揭示致病性副溶血性弧菌在不同食品基质中代谢产物的毒效应差异, 并为食品安全风险分析提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 菌株来源

致病性副溶血性弧菌 ATCC33847 购自中国普通微生物菌种保藏中心。菌株以 15% 甘油管 -80 °C 保存。本实验中所用培养基为肉心浸汤 (Brian Heart Infusion, BHI, 北京陆桥), 且培养基中氯化钠浓度调成 3%。

#### 1.1.2 试剂

肉心浸汤培养基 (Brian Heart Infusion, BHI) 购自北京陆桥技术有限公司, 氯化钠 (NaCl)、75% 医用酒精购自青岛海博生物技术有限公司; 白蛋白 (ALB)、碱性磷酸酶 (ALP)、谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、尿素氮 (BUN) 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

#### 1.1.3 仪器与设备

手提式高压杀菌锅 (上海佳胜); 洁净工作台 (苏州净化设备有限公司); 恒温培养箱 (上海跃进医疗器械厂); 高速落地冷冻离心机 (美国 Thermo 公司); 超低温冰箱 (美国 Thermo 公司); 冷冻干燥机 (上海福玛); E-330 全波长酶标仪 (美国 Thermo 公司)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 菌株的活化

将 ATCC33847 菌株解冻后, 接种到 BHI-3%NaCl 中, 37 °C 培养 24 h。菌株经过三次传代培养后, 最后一次培养物保存在 16 °C 备用。

### 1.2.2 无菌食品基质的制备

取凡纳滨对虾肌肉、牡蛎肉、淡水罗非鱼肌肉、牛肉 (均购自湛江市东风市场) 用 75% 酒精表面除菌, 以鸡蛋与米饭比为 1:4 在实验室自制蛋炒饭 (保证无菌)。

### 1.2.3 食品基质的接菌

在无菌操作下, 每 100 g 的食品基质中加入 3 g NaCl 充分混匀后转移到无菌锥形瓶中, 然后向五种食品基质中各加入 1 mL 的 ATCC33847 菌悬液 (即 1.2.1 最终培养物), 37 °C 培养直到各食品基质中的菌量达到相同水平 (通过平板计数, 当食品基质中 *Vp* 菌量达到  $10^9$  cfu/g 停止培养)。

### 1.2.4 不同浓度食品滤液的制备

培养结束后, 向各食品基质中加入等量的磷酸盐缓冲溶液 (Phosphate-Buffered Saline, PBS, 0.01 M, pH 7.2) 充分振荡后收集液体。将收集到的液体在 4 °C 条件下, 12000 r/min 离心 20 min, 收集上清液, 再通过 0.22 μm 水相滤器除掉上清液中残留菌体, 得到最终滤液, 进行冷冻干燥, 称重。根据粉末重量和原滤液体积, 用 PBS 溶液配制成不同灌胃浓度的食品基质滤液, 分别为: 10 倍稀释滤液, 原浓度滤液, 10 倍浓缩滤液。

### 1.2.5 溶血活性实验

采用我妻氏平板法<sup>[8]</sup>, 按照上述平板打孔的方法给血平板打孔。取各食品基质原滤液 20 μL 加入打好的孔中, 对照组加等量的不接种 ATCC33847 的食品

基质滤液, 37 °C温育 12 h, 观察溶血结果, 若能产生明显的透明圈, 即为阳性, 同时测定透明圈大小。

### 1.2.6 实验动物及染毒方式

将 120 只 SPF 级昆明小鼠 (广东海洋大学食品科技学院实验动物中心提供 (许可证号: SYXK(粤)2014-0053) 随机分为对虾肉、牡蛎肉、淡水鱼肉、牛肉和蛋炒饭滤液 5 大组, 再将 5 大组分别分为对照组、低剂量、中剂量和高剂量食品基质滤液 4 小组, 每小组 6 只小鼠雌雄各半。利用不同浓度食品基质滤液以 0.2 mL/(10 g) 体重剂量经口灌胃小鼠, 对照组为不接种 ATCC33847 的各食品基质滤液, 实验期间小鼠禁食, 自由饮水。12 h 后, 将小鼠称重后, 摘除眼球取血, 以 3500 r/min 常温离心 15 min 分离出血清备用。用颈椎脱臼法处死小鼠后, 立即解剖并取出心脏、肝脏、脾脏、肺、肾脏、胃、肠, 用生理盐水冲去器官中的残血, 滤纸吸干、称重并计算各脏器系数。其中: 脏器系数=脏器质量(mg)/小鼠体重(g)。

### 1.2.7 小鼠血清生化指标的测定

血清中白蛋白 (ALB) 含量、碱性磷酸酶 (ALP)、谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT) 活力和尿素氮 (BUN) 含量严格按照试剂盒说明进行测定。实验小鼠的血样平行测定 3 次。

### 1.2.8 统计学分析

采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析, 以平均数 ± 标准差 (±SD) 表示, 方差分析, 用 LSD 最小显著法比较组间差异,  $p < 0.05$  为存在显著性差异。

表 1 副溶血性弧菌在五种食品基质中代谢产物产生溶血圈直径\*

测定指标	食品基质滤液					
	对照组 <sup>†</sup>	凡纳滨对虾肉	牡蛎肉	淡水罗非鱼肉	牛肉	蛋炒饭
溶血圈直径/mm	0	7.33±0.21 <sup>b</sup>	6.73±0.49 <sup>b</sup>	5.92±0.21 <sup>c</sup>	6.83±0.25 <sup>b</sup>	10.67±0.83 <sup>a</sup>

注: 同行中不同字母表示数据间存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。\*代表 3 次平行实验的平均值 ± 标准差, <sup>†</sup>代表五种不接种副溶血性弧菌的食品基质滤液。

然而, 溶血毒素的种类不仅包括耐热性直接溶血素, 还包括非耐热性溶血素, 前者与致病性菌株直接相关, 而后者非致病性菌株也可产生。因此, 溶血活性强不一定代表致病性强, 仅从溶血活性较难区分 *Vp* 在不同食品基质中代谢产物的毒性差异, 因此需要协同测定其它指标加以区分。

## 2.2 副溶血性弧菌在五种食品基质中代谢产物对小鼠脏器系数的影响

动物脏器系数是反映外源化合物对脏器的综合影响或毒害作用的重要指标, 也是找到外源化合物作用

## 2 结果与讨论

### 2.1 副溶血性弧菌在五种食品基质中代谢产物的溶血活性

溶血毒素是 *Vp* 产生的一类重要的有毒代谢产物, 在致病过程中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。本研究通过血平板实验, 测定溶血圈直径来反映 *Vp* 在五种食品基质中代谢产物的溶血活性, 结果见表 1。 *Vp* (ATCC33847) 在蛋炒饭中的代谢产物具有最高的溶血活性 ( $p < 0.05$ ), 而虾肉、牡蛎肉和牛肉溶血活性次之, 后三者之间差异不明显 ( $p > 0.05$ ), 淡水鱼肉中溶血活性最弱。Taniguchi 等<sup>[10]</sup>指出 *Vp* 能产生一种卵磷脂依赖型溶血毒素, 这种溶血毒素同样能在血平板上产生溶血圈。其他学者<sup>[11]</sup>指出: 食品基质中的铁元素与其生长和溶血毒素的产生密切相关。因此, 我们推测 *Vp* 在蛋炒饭中的代谢产物具有强溶血活性, 是由于鸡蛋含有较高的卵磷脂和铁元素, 从而刺激了它产生较多的溶血毒素, 增强了溶血活性。这一结果提示, 相对于极易被 *Vp* 污染的虾肉和牡蛎等海产品, *Vp* 污染蛋炒饭后可以迅速的生长和产生大量的溶血毒素, 对食品安全和人体健康造成更大的威胁, 需要引起重视。对于 *Vp* 在淡水鱼中的代谢产物溶血活性最弱, 可能是由于淡水鱼肉的组成跟海产品等存在差异引起的。

靶器官的重要线索。染毒前小鼠进食、饮水、活动等未见异常。染毒 12 h 后, 虾肉、牡蛎和淡水鱼肉滤液的高剂量组小鼠出现呼吸加快、烦躁不安、毛发蓬松症状, 个别小鼠还出现肌肉震颤症状。

由表 2 可知, 低剂量时, 五种被 *Vp* 侵染后的食品基质滤液均不会引起小鼠脏器系数较对照组的显著性改变 ( $p > 0.05$ ), 说明低剂量的 *Vp* 代谢产物未对小鼠造成明显损伤; 中剂量时, 仅有虾肉滤液可导致小鼠肠道系数的显著性升高 ( $p < 0.05$ ), 说明 *Vp* 在虾肉中代谢产物能够引起小鼠肠道积水等病变, 表现出较强的肠毒性; 高剂量时, 五种食品基质滤液均会引起小鼠肠道系数显著性升高 ( $p < 0.05$ ), 分别为对照组

128%、105%、110%、109%、110% (表 2 中食品基质出现顺序), 说明 *Vp* 在不同食品基质中代谢产物均会导致小鼠肠组织损伤。Hiyoshi 等<sup>[12]</sup>也指出 *Vp* 的代谢产物通过作用于肠壁细胞, 导致肠壁内侧离子浓度升高, 从而引起积水, 表现出肠毒性。从肠道系数升高比例分析, 虾肉滤液引起小鼠肠系数升高的能力明显强于其他四种食品基质滤液, 说明 *Vp* 在虾肉中的代谢产物具有更强的肠毒性。

表 2 副溶血性弧菌在五种食品基质中代谢产物对小鼠脏器系数的影响 ( $n=6, \bar{x} \pm s/10^{-2}$ )

Table 2 Effects of the metabolites produced by *Vibrio parahaemolyticus* in five food matrices on organ coefficients in mice

灌胃食品 基质滤液	组别	小鼠部分脏器系数						
		心系数	肝系数	脾系数	肺系数	肾系数	胃系数	肠系数
凡纳滨 对虾肉	对照	5.44±0.92	47.69±5.23	2.46±0.29	6.20±1.54	12.07±2.36	17.10±2.68	85.84±2.42
	低剂量	5.28±0.40	46.08±2.48	2.39±0.56	6.23±1.10	10.14±0.98	16.30±3.18	85.89±2.73
	中剂量	5.32±0.86	45.13±2.66	2.52±0.65	6.02±1.76	11.74±2.21	19.90±5.21	99.69±10.42*
	高剂量	5.28±0.77	48.81±4.14	2.65±0.35	5.97±1.02	10.75±1.17	48.88±7.36*	109.88±9.37*
牡蛎肉	对照	4.92±1.83	43.48±7.83	3.17±1.03	7.24±2.38	16.18±3.45	18.27±2.06	88.24±7.01
	低剂量	5.03±0.81	46.69±5.52	3.36±0.37	6.36±1.44	15.87±2.33	17.21±3.15	89.84±2.31
	中剂量	5.10±0.65	44.69±7.13	3.41±1.59	6.42±1.36	15.44±1.11	13.62±4.27	86.48±13.47
	高剂量	5.07±0.50	45.77±2.77	3.12±1.43	7.33±0.95	16.17±0.59	27.82±2.83*	93.03±9.02*
淡水罗 非鱼肉	对照	5.03±1.22	42.39±4.38	2.68±0.30	6.90±1.73	11.07±2.82	18.25±2.71	86.64±5.39
	低剂量	4.96±0.75	45.86±4.94	2.77±0.85	7.75±2.73	10.35±1.32	14.32±1.53	88.64±5.30
	中剂量	5.26±2.06	46.04±4.20	2.94±1.49	7.04±2.26	10.90±2.13	14.24±1.96	90.92±8.89
	高剂量	5.28±1.25	46.67±6.12	2.79±0.74	7.05±1.87	11.12±2.46	18.39±6.10	96.01±12.29*
牛肉	对照	5.05±1.12	48.29±4.57	2.52±0.48	6.31±1.48	12.13±2.40	17.19±4.86	84.73±5.38
	低剂量	5.25±1.17	47.00±4.05	2.47±0.41	6.10±1.06	11.64±0.81	15.75±5.32	90.71±4.12
	中剂量	5.14±2.39	49.58±3.25	3.03±1.87	6.17±1.32	11.41±1.47	17.17±4.04	88.78±6.73
	高剂量	5.33±2.57	46.73±6.04	2.85±0.62	6.01±1.65	12.72±1.40	16.98±1.49	92.50±4.60*
蛋炒饭	对照	5.17±0.99	46.39±6.03	3.76±0.38	6.19±1.48	13.19±2.68	17.28±3.32	86.29±3.26
	低剂量	5.39±0.70	45.33±3.36	3.51±0.46	5.88±0.83	11.24±0.96	22.12±3.20	93.37±7.35
	中剂量	5.22±0.83	47.57±5.61	3.59±0.34	6.80±1.93	11.97±2.44	23.34±4.91	87.87±11.33
	高剂量	5.19±1.65	46.81±9.35	3.67±0.68	6.09±1.07	12.05±0.94	20.49±9.35	94.88±7.59*

注: 与各自对照组比较, \*表示存在显著性差异 ( $p<0.05$ )。

### 2.3 副溶血性弧菌在五种食品基质中代谢产物对小鼠肝肾功能的影响

肝脏是机体的代谢中枢, 进入体内的物质在肝脏中被代谢、转化和处理; 肾脏是一个重要的排泄器官, 大部分代谢产物通过肾脏排出体外。氨基转移酶是催化  $\alpha$ -氨基酸和  $\alpha$ -酮酸之间的转氨基作用。其中, ALT、ALB、AST 和 ALP 作为肝脏损伤重要的指标, 当肝细胞损伤时, 损伤或坏死的肝细胞膜通透性增加, 酶从损伤或坏死的肝细胞渗透入血液; BUN 是评价肾功

能的主要指标, 当肾功能紊乱时, 尿素排出减少, 从而使血清中 BUN 含量上升<sup>[13]</sup>。在本实验中, 灌胃小鼠低剂量五种食品基质滤液后, 小鼠肝肾功能指标较各自对照组未见显著性改变 ( $p>0.05$ ), 说明低剂量的 *Vp* 代谢产物不会对小鼠肝肾功能造成损害; 中剂量时, 染菌虾肉、牡蛎、淡水鱼肉滤液会引起 AST 和 ALT 的显著性升高 ( $p<0.05$ ), 其中牡蛎肉和鱼肉滤液还会引起 BUN 的显著性升高 ( $p<0.05$ ) 说明 *Vp* 在水产品中代谢产物会侵害肝细胞, 造成肝组织损伤, 具有明显的肝脏毒性, 牡蛎和鱼肉中的代谢产物会影响肾脏的代谢, 对肾脏有损伤

作用；高剂量时，五种食品基质滤液均会引起 AST 和 ALT 的显著性升高 ( $p<0.05$ )，表明 *Vp* 在不同食品基质中代谢产物的毒性具有共性，都能够影响肝脏代谢的关键酶 (AST 和 ALT)，但虾肉滤液对 AST 和 ALT 的影响明显高于其他四种食品基质滤液，加之，虾肉滤液还能够显著性影响 ALP 和 ALB 指标，提示 *Vp* 在虾肉中的代谢产物严重破坏肝组织，造成肝细胞内的酶渗透到血液中，较其它基质相比具有更强的肝脏毒性；虾肉、牡蛎和鱼肉滤液对 BUN 的影响高于牛肉和蛋炒饭滤液，且牡蛎肉>鱼肉>虾肉滤液，说明 *Vp* 在一些水产食品中的代谢产物除了具有肝脏毒性外，还有肾脏毒性，牡蛎中代谢产物的肾脏毒性最强。揭示 *Vp* 在水产食品基质中产生的毒力因子组成与其它食品基质中的不同。

蛋炒饭中的代谢产物虽然具有较强的溶血活性，但对小鼠脏器的损伤并未明显强于其他染菌食品滤液，说明 *Vp* 代谢产物在机体内的致病性不仅仅由溶

血毒素决定，还可能有关键作用的其他毒力因子。Rodrigues 等<sup>[14]</sup>指出弧菌代谢产生的 DNA 酶、磷脂酶、脲酶等胞外酶会对小鼠的肝脏和肾脏造成严重的损伤。因此，我们推断 *Vp* 在水产品中产生了不同于非水产品中的胞外酶，进而增强了其致病力。

此外，从 *Vp* 的代谢产物对肝功能指标的影响程度分析，灌胃高剂量虾肉滤液后，AST 和 ALT 分别为对照组的 206% 和 411%，而 ALP 和 ALB 分别为对照的 141%，131%，因此，我们推断机体受到 *Vp* 代谢产物的侵害时，AST 和 ALT 指标较后者更为灵敏，临床上采用这两个指标可以更加及时、真实的反映 *Vp* 代谢产物对机体的损伤效应。

本研究揭示了不同食品基质对 *Vp* 溶血毒素产生具有较大影响，*Vp* 在虾肉等水产品中产生具有强致病力的毒力因子，但是，对于何种原因刺激它产生较多的溶血毒素，以及强致病力的毒力因子的组成和产生规律还有待于进一步研究。

表 3 副溶血性弧菌在五种食品基质中代谢产物对小鼠肝肾功能的影响 ( $n=6, \bar{x}\pm s$ )

Table 3 Effects of the metabolites produced by *Vibrio parahaemolyticus* in five food matrices on indicators of liver and kidney function in mice

灌胃食品基质 滤液	组别	小鼠肝肾功能指标				
		ALB/(g/L)	ALP/(U/L)	AST/(U/L)	ALT/(U/L)	BUN/(mmol/L)
凡纳滨对虾肉	对照	38.83±2.19	204.81±21.23	142.61±16.10	35.80±5.01	12.34±1.67
	低剂量	38.31±3.48	199.45±16.25	151.57±11.33	39.78±3.89	12.79±1.48
	中剂量	36.14±4.42	211.12±18.70	189.20±20.10*	74.15±11.06*	14.69±3.10
	高剂量	29.57±2.27*	289.73±19.33*	292.39±22.78 <sup>a</sup>	149.92±10.44 <sup>a</sup>	25.30±2.58 <sup>c</sup>
牡蛎肉	对照	39.24±3.18	208.50±24.58	136.59±22.59	34.35±2.13	11.99±1.02
	低剂量	37.16±3.72	211.25±19.15	139.65±18.35	40.76±7.31	12.30±2.25
	中剂量	38.82±5.06	219.05±17.33	186.67±14.74*	77.81±4.23*	26.12±2.59*
	高剂量	38.39±4.19	271.80±16.34*	240.85±16.49 <sup>b</sup>	121.73±7.70 <sup>b</sup>	45.19±4.18 <sup>a</sup>
淡水罗非鱼肉	对照	38.25±2.55	209.09±18.50	133.23±14.21	44.87±2.45	12.30±2.46
	低剂量	37.47±3.85	212.35±14.74	138.66±17.45	50.89±6.99	12.89±1.37
	中剂量	36.11±3.07	211.91±15.70	160.65±10.05 <sup>c</sup>	132.34±6.24*	20.16±2.20*
	高剂量	39.71±3.30	217.75±16.65	184.61±12.27 <sup>d</sup>	156.22±4.52 <sup>a</sup>	30.44±3.19 <sup>b</sup>
牛肉	对照	36.04±2.64	202.60±17.47	144.60±18.82	32.14±2.11	13.01±1.72
	低剂量	37.99±1.94	203.50±10.68	150.03±14.49	36.91±4.28	12.65±1.38
	中剂量	36.71±3.33	210.39±18.48	152.46±20.11	40.92±3.23	13.67±4.14
	高剂量	35.09±4.19	254.84±16.38*	238.69±16.37 <sup>b</sup>	117.54±3.88 <sup>c</sup>	13.19±2.12
蛋炒饭	对照	38.36±3.67	210.86±13.48	140.61±15.27	35.79±2.51	13.23±4.29
	低剂量	37.51±3.71	199.21±20.74	144.37±17.84	34.93±4.15	13.98±1.88
	中剂量	37.23±2.78	205.33±19.09	148.73±20.26	40.63±9.68	14.26±2.95
	高剂量	36.98±2.99	210.45±16.45	211.83±16.88 <sup>b</sup>	132.53±7.22 <sup>b</sup>	14.82±2.43

注：与各自对照组比较，\*表示存在显著性差异 ( $p<0.05$ )，同列中不同小写字母表示数据间存在显著性差异 ( $p<0.05$ )。

### 3 结论

本文首次研究了致病性 *Vp* 在五种食品基质中代谢产物的溶血活性及对小鼠脏器和肝肾功能损害作

用,实验结果显示:*Vp*在蛋炒饭和牛肉中的代谢产物虽然有较高的溶血活性,但对小鼠脏器的损伤并没有强于染菌的水产品滤液,在虾肉中的代谢产物可导致小鼠的胃肠脏器和肝肾功能的严重损伤,表明虾肉中*Vp*的代谢产物对小鼠的消化系统和肝肾具有毒性作用,且侧重于肝脏毒性,而在牡蛎和淡水鱼肉中的代谢产物更侧重于肾脏毒性。揭示*Vp*在不同食品基质中可能会产生不同的毒力因子,导致对小鼠不同脏器造成毒性损伤。本研究结论可为探明致病性*Vp*在不同食品基质中的产毒差异,准确评估*Vp*侵染不同食物的安全风险提供理论依据。

### 参考文献

- [1] Su Y C, Liu C. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of sea food safety [J]. Food Microbiology, 2007, 24: 549-558
- [2] Wang D, Zhang D, Chen W, et al. Retention of *Vibrio parahaemolyticus* in oyster tissues after chlorine dioxide treatment [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 137(1): 76-80
- [3] Zhao F, Zhou D Q., Cao H H, et al. Distribution, serological and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from shellfish in the eastern coast of China [J]. Food Control, 2010, 22(7): 1095-1100
- [4] 吴葵,吴清平,张菊梅,等.珠江三角洲地区副溶血性弧菌遗传多样性和致病性相关研究[J].现代食品科技,2015,7: 283-292  
WU Kui, WU Qing-ping, ZHANG Ju-mei, et al. Genetic diversity and pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from the pearl river delta district [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 7: 283-292
- [5] Tunung R, Margaret S, Jeyaletchumi P, et al. Prevalence and quantification of *Vibrio parahaemolyticus* in raw salad vegetables at retail level [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010, 20: 391-396
- [6] Wu Y N., Wen J, Ma Y, et al. Epidemiology of food borne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Food Control 2014, 46: 197-202
- [7] 张德福,付绪磊,张明,等.副溶血弧菌毒力因子及致病机理的研究进展[J].食品科学,2015,36(7):216-222  
ZHANG De-fu, FU Xu-lei, ZHANG Ming, et al. Recent progress in research on *Vibrio parahaemolyticus* virulence factors and pathogenic mechanism [J]. Food Science, 2015, 36(7): 216-222
- [8] Wagatsuma S. A medium for the test of haemolytic activity of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Media Circle, 1968, 66: 143-151
- [9] Honda T, Ni Y X, Hata A, et al. Properties of a hemolysin related to the thermostable direct hemolysin produced by a Kanagawa phenomenon negative, clinical isolate of *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1990, 36, 395-399
- [10] Taniguchi H, Hirano H, Kubomura S, et al. Comparison of the nucleotide sequences of the genes for the thermostable direct hemolysin and the thermolabile hemolysin from *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Microbial. Pathogenesis, 1986, 1, 425-432
- [11] Kustusch R J, Kuehl C J, Crosa J H. Power plays: iron transport and energy transduction in pathogenic vibrios [J]. Biometals. 2011, 24: 559-566.
- [12] Hiyoshi H, Kodama T, Iida T, et al. Contribution of *Vibrio parahaemolyticus* virulence factors to cytotoxicity, enterotoxicity, and lethality in mice [J]. Infection and Immunity, 2010, 78(4): 1772-1780
- [13] 王越,沈连忠,李波.临床前研究中肝损伤的临床病理指标的选择及意义[J].中国药事,2009,23(8):813-816,825  
WANG Yue, SHEN Lian-zhong, LI Bo. Selection and interpretation of clinical pathology indicators of hepatic injury on preclinical studies [J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2009, 23(8): 813-816, 825
- [14] Renata A C., Ludimila M M., Rayza L A, et al. Multiple enzymatic profiles of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from oysters [J]. Revista Argentina de Microbiologia, 2013, 45(4): 267-270